

## 不同培养液对黑鹿 *Muntiacus crinifrons* 成纤维细胞生长的影响

### The Effects of Various Media on the Growth of the Black Muntjac (*Muntiacus crinifrons*) Fibroblasts

黑鹿是我国特有的哺乳动物，具较少的染色体数目 ( $2n = \sigma^9$ , ♀8)，因而是辐射生物学、细胞遗传学、遗传毒理学等研究的较好材料。

细胞离体培养时，多种不同的因素会影响细胞的生长和功能，也会导致细胞的不稳定和使细胞发生变异。因此，培养液的组成、底物的类型、细胞的种类和密度等因素都会影响细胞的寿命和改变其行为特征。不管组织细胞培养的方式如何，体外培养最关键的变化就是培养液。一种细胞适应于某种培养液，不一定适宜另一种培养液。所以，根据不同实际需要，应选择最适宜的培养液。本工作对黑鹿成纤维细胞在不同培养液中的生长特性作了比较详细的研究。

本实验共用了七种培养基，生物物理所产199(1)，Eagle(1)，1640(3)，日本水製藥株式会社产Ham F12Ⅱ型(4)，199(5)，1640(6)，Difco产199(7)。培养液成分为85%上列培养基，15%混合小牛血清，青霉素100单位/毫升，链霉素100微克/毫升，pH7.2—7.4。用0.25%胰酶(1:250，Difco)(pH7.2)消化收获细胞。开始实验时先在不同培养液中传代两次，然后进行生长速度—生长速率，细胞停滞期，细胞倍增时间；有丝分裂指数和细胞形成单层时间的观察：

结果表明，不同种类培养液对黑鹿细胞生长速率有不同影响(图A、B)。(1)培养液和(4)培养液在接种后10天内，可使细胞最大增长倍数达8.3—12.3倍。(3)和(2)培养液使细胞增殖不明显。细胞在(4)培养液中长期传代培养，其停滞期看来逐步缩短。F102代细胞的停滞期为1.6小时。在其他培养液中培养，(7)培养液为17.6小时，(1)培养液为32小时，(5)培养液为39.2小时，(2)与(3)培养液为45.6小时，(6)培养液为64小时。大多数细胞系在适量的细胞密度接种之后，其停滞期为24小时以内，接着进入对数生长期。同时，我们还观察到黑鹿细胞的倍增时间受不同培养液影响较大。

表、黑鹿细胞在不同培养液中形成单层时间

培养液	形成单层细胞的天数		
	$10.0 \times 10^4$ /毫升	$6.0 \times 10^4$ /毫升	$3.0 \times 10^4$ /毫升
(4)培养液	2	4	6
(1)培养液	3	4	6
(5)培养液	3	5	9
(7)培养液	3	6	9
(2)培养液	3	8	14
(6)培养液	4	7	>15
(3)培养液	8	14	>15

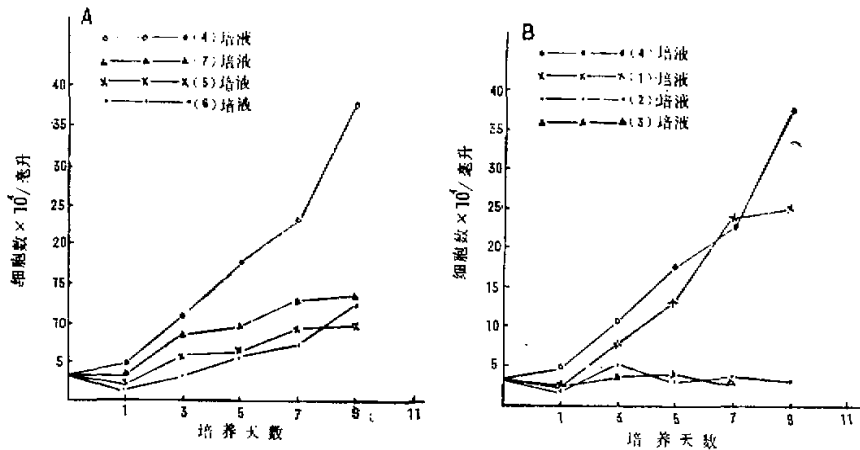


图 A、B 黑鹿细胞在不同培养液中的生长率比较

在不同培养液中贴壁率和有丝分裂指数不同。在 (4) 培养液中贴壁率较高, 有丝分裂指数也较高 (72 小时内, 平均有丝分裂指数是 35.2%)。在 (3) 培养液中, 24 小时贴壁率比 (1) 培养液中稍高。但是, 生长状况在 (3) 培养液中远不如在 (1) 培养液中。以 72 小时的平均有丝分裂指数相比较, (3) 培养液 (9.8%) 也不如 (1) 培养液 (23.6%)。看来细胞的增殖倍数与核有丝分裂指数有密切关系, 不同培养液促进细胞分裂的能力不一样。

在同种培养液中, 不同接种密度的细胞形成单层时间不同 (见表)。在适量的接种密度下, 细胞密度高的则形成单层时间短, 细胞密度低的则形成单层时间长。不同培养液对同种密度的细胞形成单层的时间也有影响。

由上述看出, 黑鹿成纤维细胞在不同培养液中, 其生长速度, 增殖状况等生长特性有较大的差异, 该细胞系比较适合的培养液是 (4) 培养液, (1) 培养液和 (7) 培养液。在这三种培养液中, 细胞形态好, 核分裂指数较高, 生长速度较快。可见这一类培养液对哺乳动物细胞具有良好生长、促进增殖的效果。(3) 和 (6) 培养液对黑鹿细胞培养, 看来不太适宜。

刘瑞清 段幸生 刘爱华 林世英

(中国科学院昆明动物研究所)

## 人工孵化银环蛇成功

浙江宁波市医药公司孝闻银环蛇试验场, 是全国仅有的三个试验场之一。今年七月下旬, 试验场的科研人员对银环蛇下的 74 枚蛋进行了人工孵化。两个月后, 幼蛇相继破壳而出。孵化出来的小活蛇, 相传是浸泡白酒治疗顽固性风湿痛, 关节不适、半身不遂、抽搐和惊厥等症的良好药。在目前野生蛇源严重不足的情况下, 采用人工养殖银环蛇, 是具有深远意义的。

周明培

(宁波市人民广播电台)